

APPENDIX 2

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-106385

(43) 公開日 平成11年(1999)4月20日

(51) Int. Cl.^{*}
 C07D471/04
 A61K 31/435

識別記号
 114
 AAB
 ACD
 AED

F I
 C07D471/04
 A61K 31/435

114 A
 AAB
 ACD
 AED

審査請求 未請求 請求項の数31 O L (全38頁)

(21) 出願番号 特願平10-223178
 (22) 出願日 平成10年(1998)8月6日
 (31) 優先権主張番号 特願平9-212322
 (32) 優先日 平9(1997)8月6日
 (33) 優先権主張国 日本 (JP)

(71) 出願人 000001904
 サントリー株式会社
 大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番10号
 (72) 発明者 島木 哲男
 大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号
 サントリー株式会社生物医学研究所内
 (72) 発明者 井上 英和
 大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号
 サントリー株式会社生物医学研究所内
 (72) 発明者 林 靖浩
 大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号
 サントリー株式会社生物医学研究所内
 (74) 代理人 協理士 石田 敏 (外2名)

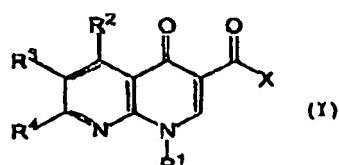
(54) 【発明の名称】 IV型ホスホジエステラーゼ阻害作用を有する1-アリール-1,8-ナフチリシン-4-オン誘導体

(57) 【要約】

【課題】 IV型ホスホジエステラーゼを選択的に阻害する化合物の開発。

【解決手段】 一般式(I) :

【化1】



(式中、R¹は置換もしくは非置換のアリール基又はヘテロアリール基を示し、R²、R³及びR⁴は独立に水素、置換もしくは非置換の低級アルキル基又はハロゲンを示し、Xは基NR⁵ R⁶又はOR⁷を示し、R⁵及びR⁶は独立に水素、置換もしくは非置換の低級アルキル基、シクロアルキル基、アリール基又はヘテロアリール基を示し、R⁷は水素、置換もしくは非置換の低級アルキル基又はシクロアルキル基を示す)で表されるIV型ホスホジエステラーゼ阻害作用を有する1-アリール-1,8-ナフチリシン-4-オ

(10)

特明平11-106385

18

卷一<既省>

卷八

【表2】

【0043】上記ホスホジエステラーゼ阻害活性試験の結果、本発明に係る1-アリール-1,8-ナフチリジン-4-オン誘導体は良好な阻害効果を示すことが確認された。

30 【0044】本猪明化合物のLPS 刺激マクロファージによるTNF- α 産生阻害活性は、以下に示す試験によって確認した。

(1) LPS刺激マクロファージによるTNF- α 産生阻害活性測定法

LPS 刺激マクロファージによるTNF- α 産生を阻害する本発明化合物の能力を評価するために、Intunopharmaco.

29, 121-127 (1995) に準じて以下のアッセイを用いた。

1) 6ないし10週齢の雌BALB/c系マウスを用いてチホグ

40 リコレート培地2mlを腹腔内投与し、4日後に腹腔内をPBS10mlで洗浄することにより、一匹あたり1ないし2x10⁷個の腹腔抽出細胞を得た。赤血球溶解液(0.75%塩化アンモニウム、17 mMトリス塩酸緩衝液、pH7.2)に懸濁し遠心操作後、10%ウシ胎児血清を含むRPMI1640培地に再懸濁し、96穴細胞培養プレートに 1×10^6 個/50μl/wellの密度で播種した。これらの細胞は培養器に強固に付着すること、非特異的エステラーゼ染色に陽性であったことから、これをマウス腹腔マクロファージとして試験に用いた。なお実験には一晩37°C、5%CO₂の条件
50 下で前培養したマウス腹腔マクロファージを用いた。

(11)

特開平11-106385

19

20

2) E.Coli (血清型055:B5) 由来のLPS を1mg/mlの濃度でPBSに溶解した後、ろ過滅菌した。試験化合物をDMSOにて溶解し、最終使用濃度の1000倍濃度溶液とした。10%ウシ胎児血清を含むRPMI1640培地0.5mlに上記LPS原液10μl (最終濃度10μg/ml) および被験物質原液1μlを加え混和したものを、前記の細胞に対し50μl/well加え、さらに8時間培養した。各wellより培養上清を回収してそのTNF-α濃度をELISA法 (Cytoscreen™ Immunoassay Kit mouse TNF-α, BioSource International社) にて測定した。

3) IC₅₀はLPS刺激により惹起されたTNF-α産生を50%

阻害する試験化合物濃度として、各化合物について算出した。

【0045】(2) 各化合物のLPS 刺激マクロファージによるTNF-α産生阻害活性

上記測定法により得られた LPS刺激マクロファージによるTNF-α産生阻害活性IC₅₀値を下記表IIに示す。比較例は、前述の国際公開公報第97/04776号実施例1記載の化合物である。

【0046】

10 【表3】

表 II

化合物	TNF-α 産生阻害活性IC ₅₀ (μM)
実施例 5.1	0.400
実施例 5.3	0.010
実施例 5.4	0.100
実施例 5.5	0.100
実施例 5.6	0.004
実施例 5.7	1.0
実施例 5.8	0.42
実施例 6.1	1.0
実施例 6.4	0.10
実施例 6.5	0.600
実施例 6.7	0.70
実施例 6.9	0.10
実施例 7.0	1.0
実施例 7.2	0.01
実施例 7.3	1.0
実施例 7.4	0.40
実施例 7.5	0.20
実施例 7.7	0.10
実施例 7.9	0.90
実施例 8.0	0.10
実施例 8.1	0.50
実施例 8.6	0.40
実施例 8.7	0.20
実施例 9.0	0.50
実施例 9.1	0.10
実施例 9.2	0.20
実施例 9.3	0.030
実施例 9.4	0.50
実施例 9.8	1.0
実施例 9.9	0.025

【表4】

1-ARYL-1,8-NAPHTHYRIDIN-4-ONE DERIVATIVE HAVING INHIBITING ACTION ON IV TYPE PHOSPHODIESTERASE**Publication number:** JP11106385**Publication date:** 1999-04-20**Inventor:** SHIMAMOTO TETSUO; INOUYE HIDEKAZU; HAYASHI YASUHIRO**Applicant:** SUNTORY LTD**Classification:****- International:** C07D471/04; A61K31/435; A61P11/00; A61P25/00; A61P43/00; C07D471/00; A61K31/435; A61P11/00; A61P25/00; A61P43/00; (IPC1-7): C07D471/04; A61K31/435**- European:****Application number:** JP19980223178 19980806**Priority number(s):** JP19980223178 19980806; JP19970212322 19970806**[Report a data error here](#)****Abstract of JP11106385**

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject new derivative, comprising a specific 1-aryl-1,8-naphthyridin-4-one, capable of selectively inhibiting IV type phosphodiesterases and useful as a preventing and therapeutic agent or the like for diseases in which a cytokine participates. **SOLUTION:** This new 1-aryl-1,8-naphthyridin-4-one derivative (a salt or a solvate) is represented by formula I [R<1> is a (substituted)aryl or a (substituted)heteroaryl; R<2> to R<4> are each H or a (substituted)lower alkyl; X is a group NR<5> R<6> (R<5> and R<6> are each H, a lower alkyl, aryl or the like) or the like] and is useful as an active ingredient or the like of an inhibitor of IV type phosphodiesterases and a preventing, therapeutic agent or the like for diseases in which a cytokine participates. The compound is obtained by reacting a compound represented by formula II (R<7> is a lower alkyl or a cycloalkyl) with ethyl orthocarbonate, then providing a compound represented by formula III (Et is ethyl), subsequently reacting the resultant compound with amines represented by the formula R<1> NH₂, treating and cyclizing the prepared compound represented by formula IV with NaH or the like, hydrolyzing the resultant ester and reacting the obtained compound with an amine component represented by the formula HNR<5> R<6> or the like.

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

- 1 -

English translation (excerpt) of JP, 11-106385, A,
Page 10, Column 18 to Page 11, Column 20

[0044] The inhibitory activities of the compound of the present invention on TNF- α production by LPS stimulated macrophages were verified by the following test:

(1) Measurement of TNF- α Production Inhibitory Activity by LPS Stimulated Macrophages

The following assay was used to evaluate the ability of the compound of the present invention to suppress TNF- α production by LPS stimulated macrophages according to Immuno pharmacol., 29, 121-127 (1995).

1) Female BALB/c mice (6 to 10 week old) were used, and received an intraperitoneal administration of thioglycolate at a dose of 2 ml. Four days later, the abdominal cavities were washed by 10 ml of PBS, whereby (1 to 2) $\times 10^7$ peritoneal cells were obtained per mouse. These were suspended in a hemolytic buffer (0.75% ammonium chloride, 17 mM tris-HCl buffer, pH7.2), centrifuged, then resuspended in an RPMI1640 medium containing 10% fetal calf serum and seeded in a 96-well cell culture plate at a density of 1 $\times 10^5$ cells/50 μ l/well. Since these cells adhered strongly to the tissue culture plate and were positive in nonspecific esterase staining, they were used for the test as mouse peritoneal macrophages. Mouse peritoneal macrophages were precultured overnight at 37°C in 5% CO₂ for the experiment.

2) E. Coli (serum type 055: B5)-derived LPS was dissolved in PBS at a concentration of 1 mg/ml, then sterilized by filtration. The test compound was dissolved in DMSO to make a 1000-fold concentration solution of the final concentration for use. Ten μ l of the above LPS stock

- 2 -

solution (final concentration: 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) and 1 μl of the tested substance stock solution were added and mixed in 0.5 ml of RPMI1640 medium containing 10% fetal calf serum. This was added to the above cells at 50 $\mu\text{l}/\text{well}$ and cultured for 8 hours. The cultured supernatant was recovered from each well and each TNF- α level was measured by ELISA (Cytoscreen™ Immunoassay Kit Mouse TNF- α , BioSource International).

3) The IC₅₀ was calculated for each compound as the concentration of the test compound inhibiting 50% of the TNF- α production caused by LPS stimulus.

[0045] (2) TNF- α Production Inhibitory Activity by LPS Stimulated Macrophages

The IC₅₀ values for the TNF- α production inhibitory activity obtained by the above method are shown in the following Table II. The comparative example was the compound described in WO-A-97-04775, Example 1, mentioned above.

[0046]

[TABLE 3]

TABLE II